

农药CuSO₄处理对空心菜生长及营养品质的影响

王瑞聪¹, 杨颜颜¹, 孙林华¹, 杜建梅¹, 葛峰², 陆长梅¹

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210023)
(2. 环境保护部南京环境科学研究所, 江苏 南京 210042)

[摘要] 随着人们对食品安全关注度的增加, 具有无公害、不产生抗药性等特点的铜制剂正被大量应用于有机农业生产中. 铜制剂的大量施用是否真对食品品质无害值得关注. 本文以空心菜的种子和幼苗为材料, 分析了CuSO₄处理下种子萌发和幼苗生长、品质等的变化. 结果显示, ≤1 mM CuSO₄的处理对种子萌发率影响不明显, 但会降低种子萌发质量; ≤9 mM CuSO₄的处理对空心菜幼苗的生长、光合、产量和营养含量影响不大; CuSO₄处理会增加空心菜体内的铜积累, 并将铜优先积累于根部; 各处理组空心菜茎叶铜含量不超标, 但≥3 mM CuSO₄处理将会导致根部铜含量超标; CuSO₄处理降低了空心菜体内的硝酸还原酶活性, 促使硝酸盐在空心菜体内累积, 并达到重度污染水平, 降低了蔬菜品质, 提高了人类的患癌风险.

[关键词] CuSO₄, 空心菜, 生长, 品质

[中图分类号] S154.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2015)03-0041-08

The Effects of Pesticide CuSO₄ on the Growth, Nutrition and Quality of *Ipomoea aquatic*

Wang Ruicong¹, Yang Yanyan¹, Sun Linhua¹, Du Jianmei¹, Ge Feng², Lu Changmei¹

(1. School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)
(2. Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China)

Abstract: With the increase of focus on food safety, copper agents which have the characteristics of pollution-free, no resistance *etc.* are widely used in organic agricultural production. Whether the extensive application of copper agents will bring influence on the yield and quality of foods or not is noteworthy. To inspect this influence, the changes of seed germination, seedling growth and vegetable quality of *Ipomoea aquatic* under CuSO₄ processing will be assayed in this paper. Results showed that CuSO₄ treatment not over 1 mM had no obvious effect on seed germination rate, but would reduce seed germination quality. CuSO₄ treatment not over 9 mM had no obvious effect on seedling growth, photosynthesis, yield and nutrient content. CuSO₄ treatment would increase copper accumulation in *I. aquatic* seedlings, and copper would accumulate preferentially in roots. Copper content in leaves and stems in the treated *I. aquatic* seedlings would not exceed the national standard, but it would exceed the standard in roots when CuSO₄ was not less than 3 mM. CuSO₄ treatment would reduce the nitrate reductase activities which led to the nitrate accumulation to the severe pollution level in *I. aquatic* seedlings. This would reduce the vegetable quality and enhance the human cancer risk.

Key words: CuSO₄, *Ipomoea aquatic*, growth, nutrition quality

铜制剂, 包括各种无机铜和有机铜制剂, 是一类无公害、不产生抗药性的农药, 杀菌范围广, 对常见的真菌、细菌可同时杀灭, 因此在有机农业上被大规模广泛使用^[1]. 由于铜制剂有效成分为无机重金属元素铜, 它对动植物和人体而言, 均为微量必需元素. 现有研究表明, 大量铜制剂的使用, 不仅会影响禽畜健康^[2], 同时由于铜在环境中移动性差, 不易降解, 长期大量使用会造成土壤铜污染^[3-6]. 而且, 随着铜试剂施用量的不断增加, 土壤铜含量超标现象将会日趋严重.

收稿日期: 2014-02-08.

基金项目: 环保公益性行业科研专项(200809092)、国家基础科学人才培养基金(J1103507).

通讯联系人: 陆长梅, 博士, 副教授, 研究方向: 植物资源与植物逆境研究. E-mail: luchangmei@njnu.edu.cn

果园一直是波尔多液等铜制剂重点施用场所. 由于水果铜超标现象并未被发现^[7], 导致人们一直认为铜制剂无毒无害. 随着人们对有机蔬菜需求量的剧增, 菜地亦成为铜制剂直接施用以及含有兽药铜制剂残留的禽畜粪便的间接施用场所^[8]. 由于植物生殖器官的重金属富集能力远小于营养器官, 更由于蔬菜消耗量远大于水果, 铜制剂在菜地的大量使用和积累是否会影响蔬菜产量和品质, 并进一步影响人类健康更应该引起人们的重视.

在铜制剂中, 由于价格和功效等原因, 无机铜制剂的使用量远大于有机铜试剂, 而无机铜制剂中, 应用范围最广泛的是硫酸铜, 其次是氢氧化铜和氧化亚铜. 硫酸铜不仅可以被单独使用, 还可以以波尔多液、4.5%井·铜_{sc}、保果灵、铵铜等多种形式被广泛使用. 鉴于此, 为探明铜制剂的大量使用是否会对蔬菜的产量和品种造成影响, 本文拟选择空心菜的种子和幼苗为实验对象, 分析硫酸铜处理对空心菜生长和品质等的影响, 探讨铜制剂使用对蔬菜安全生产可能造成的危害.

1 材料与方 法

实验于2011年~2012年在南京师范大学生命科学学院植物园进行. 空心菜(*Ipomoea aquatic*)种子由泰国鸿展农业有限公司培育, 购买于江苏省农业科学研究院. 实验共分为两个部分: 第一部分检测不同浓度CuSO₄处理对空心菜种子萌发的影响; 第二部分检测不同浓度CuSO₄处理对空心菜幼苗生长和营养品质的影响.

1.1 种子萌发

选择饱满、整齐的种子, 参照杨子仪等的种子处理和萌发方法, 并计算发芽率、发芽指数与活力指数^[9].

1.2 幼苗培养与CuSO₄处理

幼苗培养方法参照杨子仪等的方法^[9]. CuSO₄处理溶液浓度分别为0 mM、1 mM、3 mM、6 mM和9 mM (pH 6.83~pH 7.52), 对照组处理液为1/4 Hoagland 营养液. 待幼苗长至11 cm左右高度时, 每隔5 d浇灌1次, 每次浇灌体积500 mL, 共3次, 停止浇灌5 d后采样. 整个培养期间白天温度为22 ℃~28 ℃, 夜间温度为16 ℃~22 ℃, 整个处理时间为20 d.

1.3 材料采收

处理结束后, 将植株从培养盆内取出, 用自来水将根部的土和地上部分表面的灰尘清洗干净, 去离子水冲洗3遍后, 用吸水纸吸干. 将植株分为根、茎、叶3个部分, 部分直接检测, 部分在液氮中冷冻后于-80 ℃保存备用.

1.4 生长指标检测

苗高相对生长量采用处理开始与处理结束时的处理组与对照组苗高差值的比值表示(%); 叶面积采用扫描法获得^[10]; 生物量以干重表示, 将材料置于110 ℃烘箱杀青20 min, 再置于80 ℃烘干至恒重, 称重获得; 根系活力参考Comas 等的方法^[11], 以 $\mu\text{g TTC}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$ 表示.

1.5 光合系统参数测定

光合色素从第四片完全展开叶中提取, 提取方法参照段光明等的方法^[12], 检测和计算方法则参照Arnon 的方法进行^[13]. 叶绿素荧光参数在第四片完全展开叶中部, 采用叶绿素荧光仪(Hansatech, 英国)进行测定. 测定时, 先暗适应20 min, 再以3 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 闪光1 s, 立即检测各荧光参数, 并用Handy PEA 软件(v1.30)进行分析和计算.

1.6 矿质元素含量

取各器官样品各100 mg, 经去离子水洗涤数次, 105 ℃杀青15 min, 80 ℃48 h后, 将样品粉碎. 粉碎后的样品经35% (体积分数) HNO₃ 100 ℃消化30 min后, 用电感耦合等离子体发射光谱仪(Prodigy 型, Leeman Labs Inc. 美国)检测其中各矿质元素含量, 整个检测在南京师范大学分析测试中心进行. 各元素含量以比干重表示.

1.7 有机营养成分含量

还原型抗坏血酸(AsA)含量测定参照赵会杰等^[14]—联吡啶法进行; 还原型谷胱甘肽(GSH)含量测定

参照 Ellman 的方法^[15]进行;花青素的提取和测定参照孔祥生等的方法^[16];总可溶性糖含量测定参照李合生等的蒽酮比色法进行^[17];游离氨基酸总量的测定参照李合生等的茚三酮法进行^[18];可溶性蛋白含量测定参照 Bradford 的考马斯亮蓝 G-250 法进行^[19]。

1.8 硝态氮含量和硝酸还原酶活性

硝态氮和硝酸还原酶活性从第四~第五片全展叶中提取,参照王学奎的水杨酸法和 α -萘胺氧化法测定^[20]。

1.9 数据处理

实验结果以(平均值 \pm 标准差)显示.实验数据的处理和相关分析用 Origin 7.0 软件完成.图表中不同大写字母表示在单因素方差分析时不同处理间有显著性差异($P<0.05$),不同小写字母代表有极显著性差异($P<0.01$)。

2 结果与分析

2.1 CuSO₄处理对种子萌发的影响

>5 mM 的 CuSO₄处理显著延缓了空心菜种子萌发、降低了种子的萌发整齐度(图 1A);且种子胚根对 CuSO₄处理的敏感度远高于下胚轴。 ≥ 4 mM CuSO₄处理胚根不再伸长, ≥ 7 mM CuSO₄处理下胚轴不再伸长(图 1B),但该浓度下种子仍维持一定的萌发率(图 1A).可见种子萌发率并不能代表种子萌发质量,包含了萌发率和幼苗质量的活力指数则能更好地表征种子萌发质量.根据相对活力指数和 CuSO₄处理浓度得回归方程 $Y=98.43-107.1X+63.13X^2-17.9x^3+2.34X^4-0.11X^5$ ($r^2=0.994\ 03$, $P=0.001\ 56$, Y 代表相对活力指数, x 代表 CuSO₄浓度).根据此回归方程可得:半数空心菜种子在 0.718 2 mM CuSO₄处理下萌发良好,而在 5.1544 mM 时,仅 10%种子萌发良好。

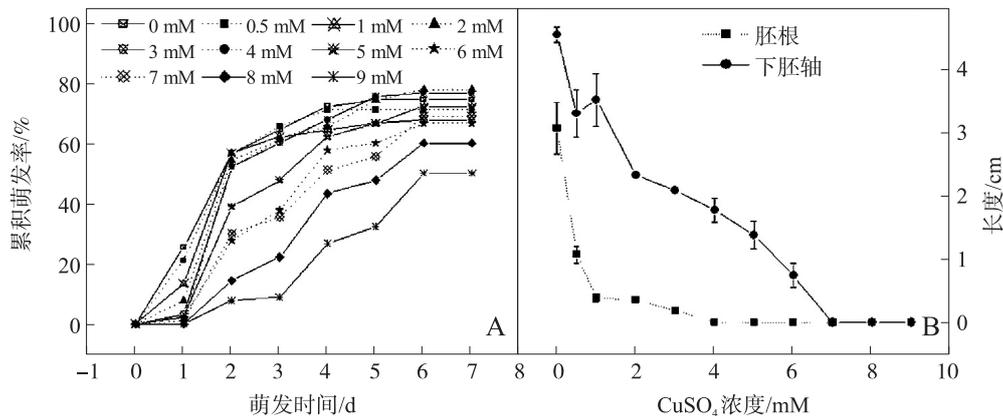


图1 CuSO₄处理对空心菜种子累积萌发率(A)和胚根、下胚轴伸长(B)的影响

Fig.1 Effects of CuSO₄ on the cumulative germination rates(A)and lengths of radicals and hypocotyls(B)of *I. aquatica* germinated seeds

2.2 CuSO₄处理对幼苗生长的影响

为检测 CuSO₄处理对空心菜幼苗生长的影响,幼苗生长状态、生长速率以及生物量累积等指标均在处理 20 d 后检测.图 2 显示 CuSO₄处理未对空心菜产生任何外部毒害症状,但 9 mM CuSO₄处理时,幼苗株高和根系量有所降低(图 2).图 3 则显示,实验浓度范围内的 CuSO₄处理对幼苗的株高(图 3A)、叶面积(图 3B)和生物量(图 3C)等影响均较小,仅在 9 mM CuSO₄处理时的根系生物量有极显著降低.根系活力则在 3 mM CuSO₄处理时有显著下降,9 mM CuSO₄处理时,根系活力降低了 47.8%(图 3E)。

2.3 CuSO₄处理对幼苗光合作用的影响

光合色素含量、叶绿素 a/b 值和类胡萝卜素/总叶绿素值在空心菜幼苗第四全展叶中含量稳定,仅在 9 mM CuSO₄处理时,总叶绿素和叶绿素 b 含量较对照有小幅降低($0.01<P<0.05$)(图 4).荧光参数结果则显示 F_m 值仅在 ≥ 6 mM CuSO₄处理时极显著低于对照, F_v/F_0 和 F_v/F_m 值仅在 9 mM CuSO₄处理时极显著低于对照.由此可见,<9 mM CuSO₄处理对空心菜幼苗的光合代谢影响不大。

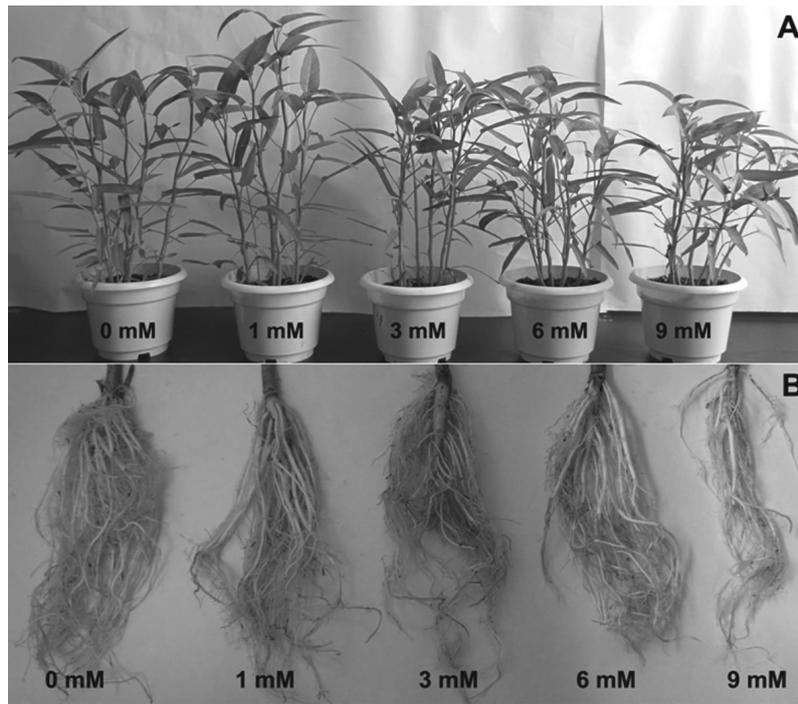


图2 空心菜幼苗对 CuSO₄处理的反应(A:地上部;B:根部)

Fig.2 The response of *I. aquatica* seedlings to different concentrations of CuSO₄(A:shoot,B:root)

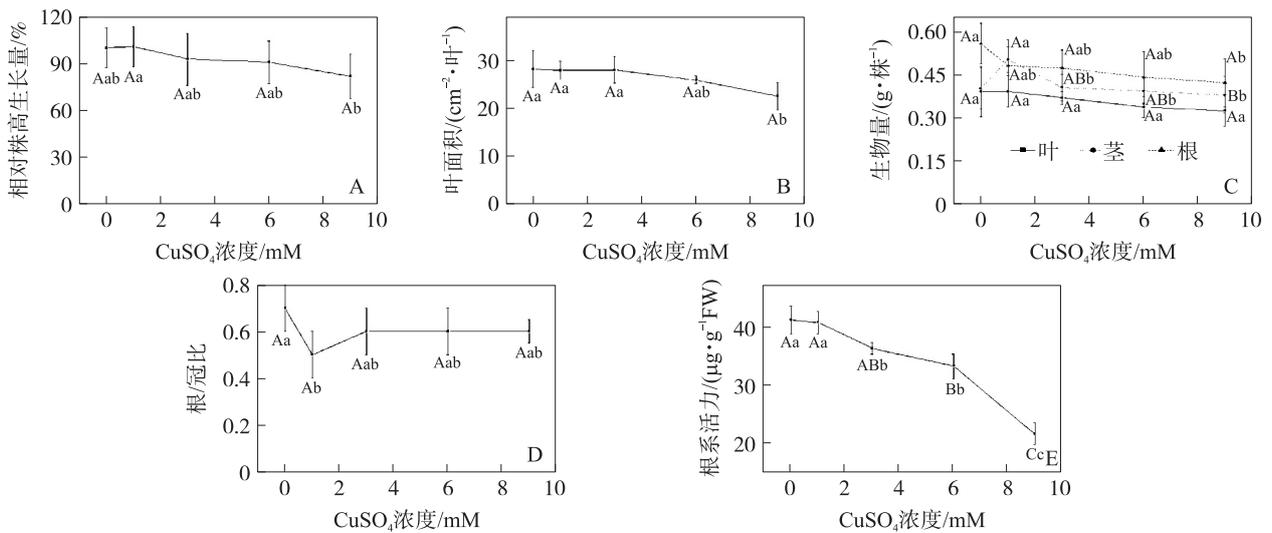


图3 CuSO₄处理对空心菜幼苗相对株高生长量(A)、叶面积(B)、生物量(C)、根/冠比(D)和根系活力(E)的影响

Fig.3 Effects of CuSO₄ on the relative stem height (A), leaf area (B), biomass accumulation (dry weight) (C), root/shoot ratio (D) and root activity (E) of *I. aquatica* seedlings

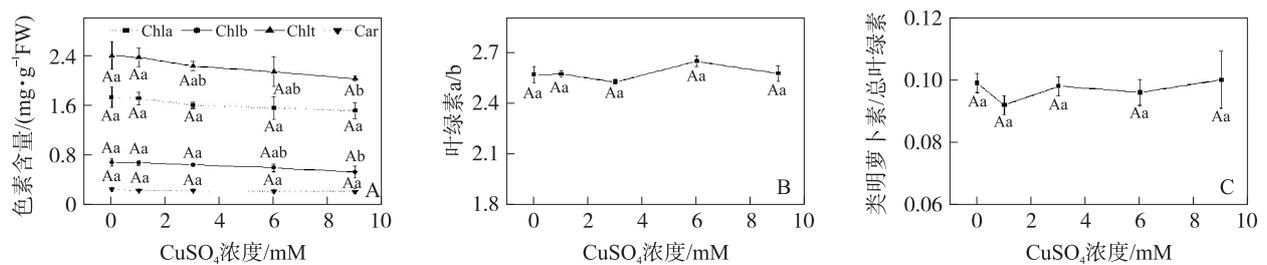


图4 CuSO₄处理对空心菜光合色素含量(A)、叶绿素a/b值(B)和类胡萝卜素/总叶绿素值(C)的影响

Fig.4 Effects of CuSO₄ on the chloroplast pigment contents (A), Chl a/b ratio (B) and Car/Chlt (C) ratio of *I. aquatica* seedlings

表 1 CuSO₄处理对空心菜叶片叶绿素荧光参数的影响

Table 1 Effects of CuSO₄ on the chlorophyll fluorescence parameters of *I. aquatica* seedlings

CuSO ₄ 浓度/(mM)	F ₀	F _m	F _v /F ₀	F _v /F _m
0	514±29Ac	2892±57Aa	4.64±0.37Aa	0.82±0.01Aa
1	517±67Abc	2870±115ABa	4.62±0.7ABab	0.82±0.02Aa
3	534±71Aabc	2787±90ABab	4.31±0.88ABbc	0.81±0.03ABab
6	578±24Aab	2713±90Bb	3.7±0.79ABc	0.79±0.01ABb
9	589±29Aa	2703±113Bb	3.61±0.78Bc	0.78±0.02Bb

2.4 CuSO₄处理对矿质营养含量的影响

各器官矿质元素含量仅检测了4组(对照以及1 mM、6 mM和9 mM CuSO₄处理组). 分析图5可见,K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺和P元素主要累积于叶和茎中,微量元素在叶中含量较高,CuSO₄处理对空心菜幼苗各器官中不同矿质元素含量影响不一. 具体表现为:K、Mg和P含量在实验处理浓度范围内或升高或维持稳定(图5A、5C和5D),而茎叶中的Ca含量和微量元素含量则随着CuSO₄处理浓度的升高而降低(图5B和5E).

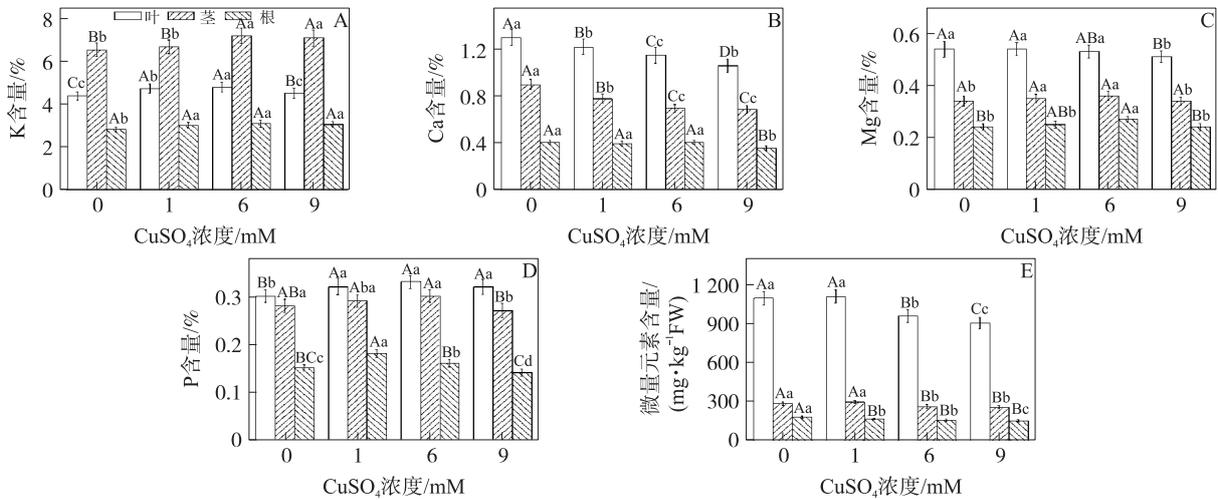


图5 CuSO₄处理对空心菜各器官内矿质元素含量的影响

Fig.5 Effects of CuSO₄ on mineral nutrition contents in the organs of *I. aquatica* seedlings

2.5 CuSO₄处理对有机营养成分含量的影响

蔬菜有机营养成分种类繁多,本文仅检测了包括部分抗氧化小分子物质、可溶性糖、可溶性蛋白以及游离氨基酸等在内的有机营养物质含量(图6、图7). 包括谷胱甘肽(图6B)、类胡萝卜素(图6D)、可溶性蛋白(图7A)和可溶性糖(图7B)在内的多数有机分子含量在实验处理浓度范围内维持稳定;而抗坏血酸含量随CuSO₄处理浓度的升高而降低($r=0.9774$)(图6A);花青素含量在CuSO₄处理时有一定程度提高,但各处理间没有差异(图6C);游离氨基酸含量在CuSO₄处理下有一定程度降低,但各处理组间也没有差异(图7C). 由此可见,≤9 mM的CuSO₄处理对空心菜幼苗的有机养分总体影响不大.

2.6 CuSO₄处理对铜、硝态氮含量以及硝酸还原酶活性的影响

表2中结果显示,对照组叶片中Cu含量最高,根次之,茎中含量最低;CuSO₄处理后,空心菜各器官Cu含量均随CuSO₄处理浓度的升高而升高,且根中含量最高、茎中含量逐渐高于叶. 以含水量90%计算,实验范围内空心菜茎叶可食部分Cu含量最高值出现在9 mM CuSO₄处理组茎中((7.43±0.352)mg/kg FW),该值低于我国《食品中铜限量卫生标准》(GB 15199—1994)中蔬菜标准(10 mg/kg FW),而≥3 mM CuSO₄处理时,根中的铜含量则超过该蔬菜标准.

CuSO₄处理显著提高了空心菜叶片中的硝态氮含量($r=0.9352$, $P<0.01$). 根据我国《蔬菜中硝酸盐限量》标准(GB 19338—2003,中国农科院2004年制定),对照组空心菜叶片内的硝态氮含量已达中度污染水平(483 mg/kg FW~785 mg/kg FW),而1 mM~9 mM CuSO₄处理下的硝态氮含量达重度污染水平(785 mg/kg~1 440 mg/kg). 硝酸还原酶活性检测结果则显示,CuSO₄处理显著降低了空心菜叶片中的硝酸还原酶活性($r^2=-0.8406$, $P=0.028$),这可能是CuSO₄处理导致空心菜叶片中硝态氮含量升高的主要原因.

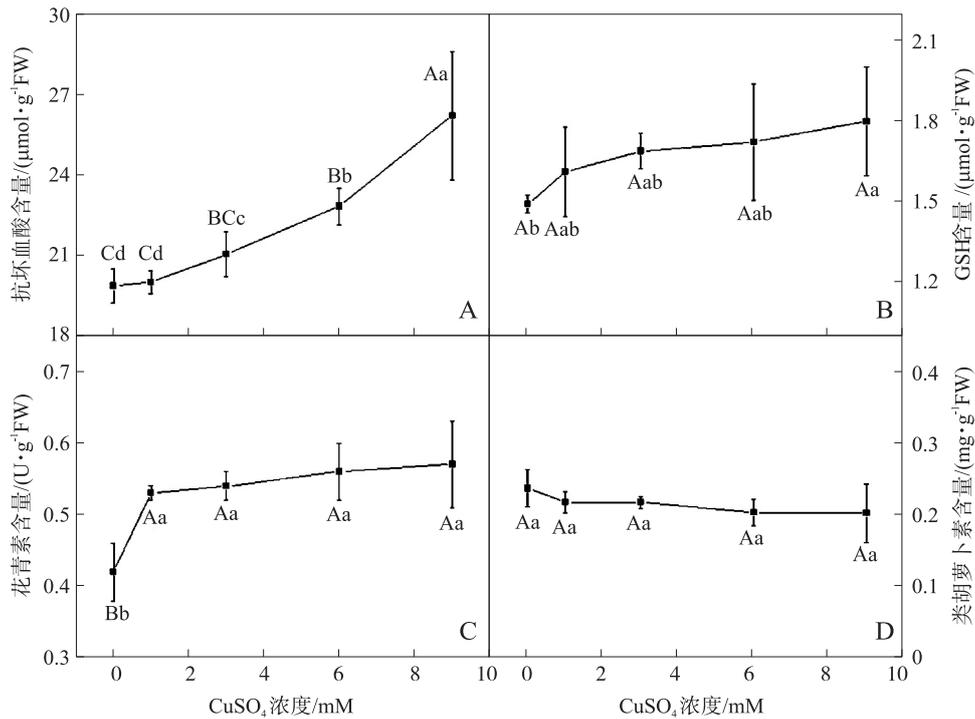


图6 CuSO₄处理对空心菜叶片内小分子抗氧化物质含量的影响

Fig.6 Effects of CuSO₄ on the contents of non-enzymatic antioxidants in the leaves of *I. aquatica* seedlings

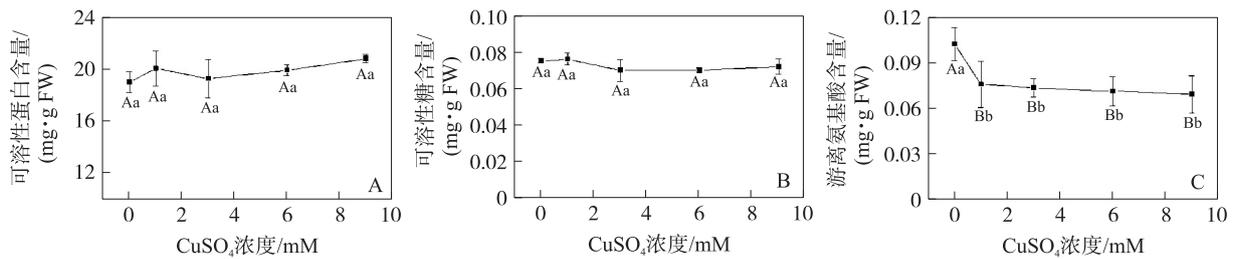


图7 CuSO₄处理对空心菜叶片内可溶性蛋白(A)、可溶性糖(B)和游离氨基酸(C)含量的影响

Fig.7 Effects of CuSO₄ on the contents of soluble protein(A), soluble sugar(B), and free amino acid(C) in the leaves of *I. aquatica* seedlings

表2 CuSO₄处理对空心菜Cu硝态氮含量以及硝酸还原酶活性的影响

Table 2 Effects of CuSO₄ on the Cu contents, nitrate contents and nitrate reductase activities in *I. aquatica* seedlings

CuSO ₄ 浓度/mM		0	1	3	6	9
Cu 含量(mg/kg DW)	根	2.58±0.12Ee	65.80±3.59Dd	102.35±4.56Cc	136±6.71Bb	181±9.35Aa
	茎	1.48±0.09Ee	26.40±1.47Dd	42.38±2.45Cc	60.7±3.13Bb	74.3±3.52Aa
	叶	2.89±0.16Ee	38.30±2.12Dd	43.25±2.03Cc	46.2±2.11Bb	54.7±2.87Aa
硝态氮含量/(mg/kg FW)		762±49Bb	852.32±88.1ABb	880.45±93.34ABb	894.51±25.32ABab	1029.54±102.66Aa
硝酸还原酶活性/(μg NO ₂ ⁻¹ ·g ⁻¹ FW·h ⁻¹)		6.23±0.32Aa	5.06±0.49ABb	4.10±0.49Bbc	3.99±0.70Bc	3.78±0.60Bc

3 讨论

有机蔬菜生产中多数直接使用CuSO₄或CuSO₄与其他试剂配合的铜制剂如波尔多液、铜铵试剂、4.5%井·铜sc等喷施植物或土壤;进入土壤中的铜离子在环境中移动性差,不易降解,主要积聚于植物根系分布的土壤表层(0 cm~15 cm)^[1];而叶面喷施的铜制剂,铜以铜离子的形式直接接触植株地上部.本文以CuSO₄溶液通过基质直接处理种子和幼苗,主要模拟并分析土壤铜制剂超标对蔬菜的影响.

现阶段我国菜地土壤实际铜含量在11.69 mg/kg~348.8 mg/kg范围内^[4,5],多数在我国《土壤环境质量标准》(GB15618—1995)二级标准范围内(pH 6.5~pH 7.5, 100 mg/kg).本实验结束时测得基质铜含量结果

显示(表3),1 mM CuSO₄处理组基质中的铜含量与我国当前土壤水平相当,6 mM~9 mM处理组基质铜含量远高于目前我国土壤水平,但3 mM处理组铜含量低于法国连续使用波尔多液10年的果园土壤铜含量(500 mg/kg)^[21],6 mM处理组低于巴西连续使用波尔多液16年后的可可园(993 mg/kg)土壤的铜含量^[22],9 mM处理组则低于法国具有130年铜制剂使用历史的葡萄园土壤铜含量(1 500 mg/kg)^[21],更低于巴西连续使用波尔多液16年后的葡萄园土壤铜含量(3 200 mg/kg)^[23].因此,本实验既模拟了我国土壤铜制剂污染的现实状况,也预测了铜制剂大量污染后的可能状况.

表3 不同浓度 CuSO₄处理对基质中总铜含量的影响Table 3 Effects of different concentrations of CuSO₄ on the total Cu content in substrates

CuSO ₄ 浓度/mM	0	1	3	6	9
基质Cu含量/(mg/kg DW)	ND	58.89	358.25	838.79	1194.98

3.1 CuSO₄处理对空心菜产量的影响

随着CuSO₄处理浓度的提高,空心菜种子活力指数(图1B)、幼苗的根系活力(图3F)等下降.这表明高浓度CuSO₄处理对空心菜种子萌发和幼苗生长有一定影响(图5),最终导致植株生长受抑.但相当于现行环境浓度或者稍高环境浓度的CuSO₄处理并没有对种子萌发率、幼苗株高、叶面积和生物量累积等产生显著影响(图2~图3),仅仅在萌发期对胚根胚芽的伸长有一定抑制作用(图1B)^[24].空心菜的光合色素含量、比例以及荧光参数等结果也说明,超高浓度的CuSO₄处理可能会对空心菜等光合器官和光合功能产生一定影响,但现阶段铜制剂的使用对植株光合功能影响不大(表1).由此推测,铜制剂在土壤中的积累可能对种子萌发质量产生一定影响,但对蔬菜产量影响不明显^[4,5].

3.2 CuSO₄处理对空心菜品质的影响

蔬菜品质主要从营养成分、抗营养成分两方面考虑.营养成分包括矿质营养、有机营养两方面,抗营养成分则包括重金属、硝酸盐含量等.在本实验CuSO₄处理范围内,空心菜中的K、Mg和P元素含量稳定或小幅升高(图5A、5C和5D),Ca和微量元素含量降低(图5B和5E);谷胱甘肽和类胡萝卜素(图6B、6D)、可溶性蛋白和可溶性糖(图7A、7B)含量稳定,抗坏血酸含量升高(图6A),游离氨基酸含量降低.可见,CuSO₄处理下,绝大多数无机和有机养分含量稳定,少数养分有小幅变化,但有升有降.总体上而言,≤9 mM的CuSO₄处理对空心菜幼苗的营养成分影响不大.这提示土壤中的铜制剂含量超标对蔬菜营养成分含量影响不大.

铜是人体所必需的微量元素,但临床医学研究表明,人体血清中铜含量的升高与癌症发病率密切相关,人体铜主要来源于蔬菜.在各浓度CuSO₄处理下,仅空心菜根中的Cu含量在CuSO₄≥3 mM时超标(GB 15199—1994).由此推测,有可能在铜制剂大量使用下,根类蔬菜的铜含量最先超标,而类似空心菜这样的叶菜的铜含量在很长时间范围内仍将处于安全水平.这也与郑袁明等和宋波等的结果一致^[4,5].

人体硝酸盐主要来源于蔬菜,而硝酸盐在人体中可被还原成有毒的亚硝酸盐.亚硝酸盐不仅可降低血液载氧能力,还可与次级胺结合转化成强致癌物质亚硝酸胺.因此,蔬菜硝酸盐含量的增加可能增加人类的患癌风险.陈明华等的研究指出,微量使用铜肥会提高小白菜体内的硝酸盐含量^[25].本研究则发现,未施加CuSO₄处理时空心菜体内的硝态氮含量已达到中度污染程度,1 mM~9 mM的CuSO₄处理则通过降低空心菜体内的硝酸还原酶活性而提高其硝酸盐含量,并使硝酸盐含量达重度污染水平(表2).由此可见,铜制剂的大量使用可能会通过增加蔬菜体内的硝态氮含量从而进一步增加人类的患癌风险.

综上所述,以CuSO₄为代表的铜制剂的大量使用,会导致菜地土壤铜积累大为增加;增加了的铜含量在现阶段对种子萌发率影响不明显,但会降低种子萌发质量;对空心菜幼苗的生长、产量和营养含量影响不大.CuSO₄处理会增加蔬菜体内的铜积累,并将铜优先积累于根部;现阶段土壤铜含量下,空心菜各部位Cu含量不超标,但随着铜制剂的进一步大量使用,其根部铜含量将超标.实际污染水平下的CuSO₄处理通过降低空心菜体内的硝酸还原酶活性而促使硝酸盐在空心菜体内累积,并达到重度污染水平,降低了蔬菜品质,提高了人类的患癌风险.

[参考文献]

- [1] 蔡道基,单正军,朱忠林,等.铜制剂农药对生态环境影响研究[J].农药学报,2001,1(3):61-68.
- [2] 陈龙,潘家强,唐兆新.高铜饲料对肉鸡肝脏和肌肉组织中铜残留的影响[J].黑龙江畜牧兽医:科技版,2012,10(上):67.
- [3] 卜元卿,石利利,单正军.波尔多液在苹果和土壤中残留动态及环境风险评价[J].农业环境科学学报,2013,32(5):972-978.
- [4] 郑袁明,宋波,陈同斌,等.北京市菜地土壤和蔬菜中铜含量及其健康风险[J].农业环境科学学报,2006,25(5):1093-1101.
- [5] 宋波,袁立竹,钟雪梅,等.桂林市菜地土壤和蔬菜铜含量及其健康风险[J].农业环境科学学报,2012,31(5):942-948.
- [6] Hang F S, Li Y X, Yang M, et al. Copper residue in animal manures and the potential pollution risk in Northeast China[J]. J Resour Ecol, 2011, 2(1):91-96.
- [7] 孙莹莹,赵淑洁,李翔宇,等.波尔多液的施用对套袋苹果铜含量的影响[J].广东微量元素科学,2012,19(6):25-28.
- [8] 李金堂,默书霞,王秋生,等.蔬菜铜制剂药害的发生及防治[J].长江蔬菜,2012(7):45,65.
- [9] 杨子仪,徐亚莉,葛峰,等.兽药洛克沙砷处理对空心菜生长代谢和营养价值的影响[J].地球与环境,2013,41(4):441-448.
- [10] 骆郴,贾亚敏,刘彤,等.利用普通扫描仪精确测量叶面积的技术及方法[J].北方园艺,2007(5):46-48.
- [11] Comas L H, Eissenstat D M, Lakso A N. Assessing root death and root system dynamics in a study of grape canopy pruning[J]. New Phytol, 2000, 147: 171-178.
- [12] 段光明.叶绿素含量测定中Arnon公式的推导[J].植物生理学通讯,1992,28(3):221-222.
- [13] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoxidase in *Beta vulgaris*[J]. Plant Physiol, 1949, 24: 1-15.
- [14] 赵会杰.抗坏血酸含量及抗坏血酸过氧化物酶活性的测定.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999:315-316.
- [15] Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups[J]. Arch Biochem Biophys, 1959, 82(1):70-77.
- [16] 孔祥生,易现峰.花青素含量的测定[M]//刘萍,李明军.植物生理学实验技术.北京:中国农业出版社,2008:18.
- [17] 李合生.植物体内可溶性糖含量测定[M]//李合生.植物生理生化实验原理和技术.北京:高等教育出版社,2000:195-196.
- [18] 李合生.植物体内游离氨基酸总量测定[M]//李合生.植物生理生化实验原理和技术.北京:高等教育出版社,2000:192-194.
- [19] Bradford M M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding[M]. Anal Biochem, 1976, 72:248-254.
- [20] 王学奎.植物体内硝态氮含量测定[M]//李合生.植物生理生化实验原理和技术.北京:高等教育出版社,2006:122-123.
- [21] Deluisa A, Giandon P, Aichner M, et al. Copper pollution in Italian vineyard soils[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1996, 27(5-8):1537-1548.
- [22] Mirlean N, Roisenberg A, Chies J O. Metal contamination of vineyard soils in wet subtropics (Southern Brazil)[J]. Environmental Pollution, 2007, 149(1):10-17.
- [23] Flores Velez L M, Ducaroir J, Jaunet A M, et al. Study of the distribution of copper in an acid sandy vineyard soil by three different methods[J]. European Journal of Soil Science, 1996, 47(3):523-532.
- [24] 徐钰,刘兆辉,江丽华,等.3种铜制剂对作物种子的生态毒性效应[J].农业环境科学学报,2009,28(10):2010-2016.
- [25] 陈明华,林光.配施铜、钼微肥对小白菜品质影响的研究[J].福建农业科技,1998(3):13-14.

[责任编辑:黄敏]